



TITLE:

Über die Bildungsstätte der im Blute nachweisbaren Antikörper bei der Salbenimmunisierung.

AUTHOR(S):

Hashimoto, Nagatoshi

CITATION:

Hashimoto, Nagatoshi. Über die Bildungsstätte der im Blute nachweisbaren Antikörper bei der Salbenimmunisierung.. 日本外科宝函 1939, 16(4): 563-572

ISSUE DATE:

1939-07-01

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/205034>

RIGHT:

Über die Bildungsstätte der im Blute nachweisbaren Antikörper bei der Salbenimmunisierung.

Von

Dr. Nagatoshi Hashimoto

(Aus dem Laboratorium der Kais. Chir. Universitätsklinik Kyoto (Prof. Dr. R. Torikata))

Versuch I.

Über das Verhalten der Opsoninzunahme im Blute zum Grade der Abtragung des vorbehandelten Hautlokals.

Versuchsanordnung.

Wir haben auf eine bestimmte Grösse (4,5 cm × 4,5 cm) der depilierten Haut normaler erwachsener Kaninchen mit einem Körpergewicht von etwa 2 kg eine Immunogensalbe in der Menge von 2 g, die 1,25 ccm eines Standardkoktigns von *Staphylococcus pyogenes aureus* enthielten, 5 Minuten lang mit dem Finger eingerieben und den Rest der Salbe mittels einer passenden Bandage darauf festgehalten.

Nach Verlauf von 24 Stunden haben wir die Salbe mit Benzin gründlich abgewaschen.

Dann haben wir das vorbehandelte Hautlokal je nach der Versuchsgruppe entweder total bzw. in einer Grösse von 1/2, 1/3 oder 1/5 herausgeschnitten und genäht, um die Sera der Tiere am 7. Tage auf ihren Gehalt an spezifischem Opsonin hin zu prüfen. Die opsonierende Kraft der Sera wurde aber in vitro nach der Angabe von *H. Suguro*¹⁾ geprüft.

Versuchsergebnisse.

Die Ergebnisse der Versuche, Mittelwerte von je 3 eine Gruppe bildenden Kaninchen, sind in Tabelle 1 zusammengestellt und noch in der Abbildung 1 kurvenmässig veranschaulicht.

Tabelle 1.

Das Verhalten der Opsoninmenge im Blute zum Grade der Abtragung des vorbehandelten Hautlokals.

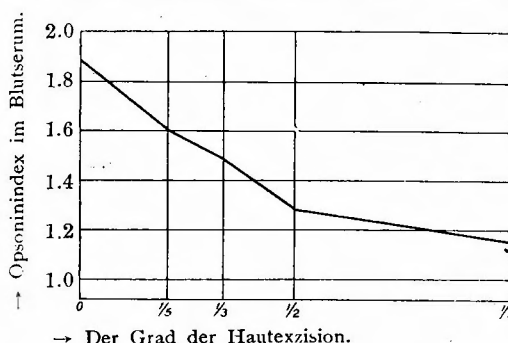
Der Grad der Hautexzision	Die spezifisch opsonierende Wirkung der Blutsera im		
	Phagozytat	Opsoninindex ¹⁾	Prozentsatz des Opsoninindex
0 (d. h. gar nicht abgetragen)	26	1,89	100
1/5	22	1,60	85
1/3	19	1,49	80
1/2	14	1,31	72
1/1 (d. h. total abgetragen)	14	1,18	65

1) Dabei wurde das ceteris paribus bestimmte Phagozytat kurz vor der Salbenapplikation als 1,0 gesetzt.

1) Torikata, R., Die Impedinerscheinung. Jena 1930, S. 2—4.

Abb. 1.

Das Verhalten der am 8. Tage nach der 24stündigen Salbenapplikation im Blute nachweisbaren Opsoninmenge zu der Grösse der vom vorbehandelten Hautlokal exzidierten Haut (Tabelle 1).



Ergebnisse mit Besprechung.

Bei der 24stündigen Vorbehandlung eines beliebigen Hautlokals mittels der äusserlichen Applikation einer Staphylokokkenkoktigensalbe liess sich das spezifische Opsonin am 8. Tage in einer ansehnlichen Masse (mit einem Koeffizient von 1,89) im Blutserum nachweisen.

Dies lehrt uns in völliger Übereinstimmung mit den Angaben von *Hatta*,¹⁾ *Ozu*,²⁾ *Kuwabara*,³⁾ *Miyaji*⁴⁾ u.a.m., dass die Gewinnung allgemeiner spezifischer Immunität durch die Vorbehandlung eines beliebigen Hautlokals mittels der Koktigensalben mit gutem Erfolge erzielt werden kann.

War aber das Hautlokal kurz nach dem Abschluss der 24stündigen Salbenapplikation in abgestuften Grössen exzidiert worden, so verminderte sich die Menge des am 8. Tage im zirkulierenden Blute nachweisbaren spezifischen Opsonins dementsprechend auch stufenweise (Abb. 1).

Diese Feststellung will uns sagen, dass die Antikörper bei der Salbenimmunisierung nicht ganz aber doch hauptsächlich vom vorbehandelten Hautlokal aus in die allgemeine Blutzirkulation geliefert werden.

Trotz der totalen Exzision des vorbehandelten Hautlokals liess sich eine zwar minimale, aber doch deutlich nachweisbare Zunahme des spezifischen Opsonins mit einem Index von 1,18 noch im Blutserum konstatieren. Die Frage, wie weit dasjenige Hautlokal, wo die Immunogensalbe äusserlich appliziert worden war, das Antigen in die allgemeine humorale Zirkulation durchlässt, wird durch weitere Experimente beantwortet werden.

1) Archiv f. Japan. Chir. Bd. 10, 1933, S. 91—445.

2) Daselbst, Bd. 12, 1935, S. 1479—1558.

3) Mitt. d. med. Ges. zu Tokio, Bd. 49, 1935, S. 560.

4) Arch. f. Japan. Chir. Bd. 14, 1937, S. 340—420.

Versuch II.

Über das Verhalten des im Blute erzeugten Opsonins zu der Cocainisierung des vorbehandelten Hautlokals.

Anstatt der vorerwähnten Abtragung des immunisierten Hautlokals haben wir bei diesem Versuche die betreffende Haut nachträglich durch Cocain zu lähmen versucht.

Wir haben nämlich 4 proz. Tropacocainsalbe (10 g Lanolini und 5 g Vaserini vermengt mit 0,61 g Tropacocains) auf die 24 Stunden lang mit der Koktigensalbe vorbehandelte Hautoberfläche in verschiedenen Grössen appliziert; u. z. bei der Versuchsgruppe

- 1) A 0,4 g der Cocainsalbe auf $1/5$ der immunisierten Hautoberfläche,
- 2) B 0,6 g der Cocainsalbe auf $1/3$ der immunisierten Hautoberfläche,
- 3) C 1,0 g der Cocainsalbe auf $1/2$ der immunisierten Hautoberfläche und
- 4) D 2,0 g der Cocainsalbe auf die ganze Ausdehnung der immunisierten Hautoberfläche.

Bei einer beliebigen Versuchsgruppe E erfolgte die Salbenimmunisierung ohne Hinzufügung der daran anschliessenden Applikation der Cocainsalbe.

Die Applikation der Cocainsalbe wurde täglich einmal erneuert und voll 6 Tage fortgesetzt. Am 7. Tage wurden die Sera der Versuchstiere auf den Opsoningehalt, wie beim Versuch I, geprüft.

Die Ergebnisse der Versuche gehen aus Tabelle 2 hervor.

Tabelle 2.

Das Verhalten der Opsoninwirkung der Sera zum Grade der Cocainisierung des vorbehandelten Hautlokals.

Versuchsgruppe*	Die Grösse der cocainisierten Oberfläche des Hautlokals	Opsoninindex	Prozentsatz des Opsoninindex
E	0	1,89	100
A	$1/5$	1,70	90
B	$1/3$	1,61	85
C	$1/2$	1,40	74
D	$1/1$	1,39	73

* Siehe den Text!

Auf der anderen Seite haben wir kontrollhalber die Applikation der Cocainsalbe nicht auf das salbenimmunisierte Hautlokal, sondern auf eine von demselben weit entfernte beliebige normale Hautoberfläche appliziert und die in Tabelle 3 angegebenen Ergebnisse erhalten.

Tabelle 3.

Ergebnisse des Kontrollversuche, bei der nicht die salbenimmunisierte, sondern die normale Haut ceteris paribus cocainisiert worden war.

Die Grösse der cocainisierten normalen Haut.	Opsoninindex	Prozentsatz des Opsoninindex
0	1,89	100
1/2 ¹⁾	1,66	88
1/1 ²⁾	1,63	86

- 1) 1/2 von der Grösse 4,5 cm × 4,5 cm ; die Salbe enthielt 0,04 des Tropicocains pro die.
- 2) Die ganze Grösse von 4,5 cm × 4,5 cm ; die Salbe enthielt 0,08 des Tropicocains pro die.

Ergebnisse mit Besprechung.

Wenn das mittels der Koktigensalbe 24 Stunden lang immunisierte Hautlokal nachträglich in abgestufter Grösse durch Cocainsalbe 6 Tage lang behandelt worden, so war der am 7. Tage im Blutserum nachweisbare maximale Opsoninindex in einem ansehnlichen Masse verkleinert.

Die Verminderung des Opsoninindex geschah im Verhältnisse von 100 : 90 : 85 : 74 : 73 beim Cocainisierungsversuch (Tab. 2) und 100 : 85 : 80 : 72 : 65 beim Abtragungsversuch (Tab. 1).

Sowohl die Cocainisierung als auch die Abtragung des Hautlokals in abgestufter Grösse ergaben also fast die gleichen Resultate.

Bei einem Kontrollversuche, bei dem die Cocainsalbe nicht auf das immunisierte Hautlokal, sondern auf ein anderswo beliebige normale Hautoberfläche appliziert worden war, war die Herabsetzung des Opsoninindex eine geringere.

Dies spricht auch für die Auffassung, dass die Antikörper nicht ganz aber teilweise vom immunisierten Hautlokal aus in die allgemeine Blutzirkulation geliefert werden.

Versuch III.

Über das Verhalten der Agglutininzunahme im Blute zu der Abtragung des vorbehandelten Hautlokals.

Wir haben ein beliebiges Hautlokal normaler Kaninchen durch eine Koktigensalbe von Colibakterien 24 Stunden lang vorbehandelt und analog beim Versuch I geprüft, wie sich der Titer des am 8. Tage im Blutserum nachweisbaren Anticoliagglutinins zu der Grösse der (gleich nach der 24stündigen Applikation der Koktigensalbe erfolgten) Abtragung des

vorbehandelten Hautlokals verhält. Die Ergebnisse der Versuche gehen, wie immer, als Mittelwerte von je 3 eine Versuchsgruppe bildenden normalen Kaninchen aus Tabelle 4 und Abb. 2 hervor.

Tabelle 4.

Das Verhalten des im Blute zugenommenen Agglutinititer bei der Salbenimmunisierung zu der Grösse der vom vorbehandelten Hautlokal exzidierten Haut.

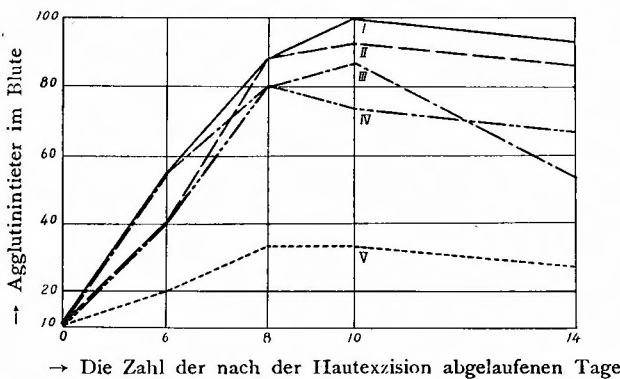
Der Grad der Hautexzision	Der Agglutinititer im Blutserum				
	vor der Salbenimmunisierung	nach der Salbenapplikation; u. z. am			
		8. Tage	10. Tage	12. Tage	16. Tage
0 ¹⁾	10	53	87	100	93
1/5	10	40	87	93	87
1/3	10	53	80	87	53
1/2	10	40	80	73	67
1/1 ²⁾	10	20	33	33	27

1) d. h. gar nicht ausgeschnitten.

2) d. h. total ausgeschnitten.

Abb. 2.

Das Verhalten des im Blute zugenommenen Agglutinititer bei der Salbenimmunisierung zu der Grösse der vom vorbehandelten Hautlokal herausgeschnittenen Haut.



Kurve I = das betreffende Hautlokal gar nicht exzidiert.

„ II = 1/5 des Hautlokals abgetragen.

„ III = 1/3 „ „ „

„ IV = 1/2 „ „ „

„ V = das betreffende Hautlokal total abgetragen.

Auf der anderen Seite haben wir bei den 24 Stunden lang mittels der Colikotigensalbe vorbehandelten Individuen anstatt des betreffenden Hautlokals die davon weit entfernte nicht

vorbehandelte normale Haut in derselben Grösse wie im vorigen Versuche exzidiert und ceteris paribus die in Tabelle 5 angegebenen Ergebnisse erhalten.

Tabelle 5.

Ergebnisse der Kontrollversuche, bei denen die normale Haut anstatt der salbenimmunisierten exzidiert worden war.

Die Grösse der exzidierten normalen Haut.	Der Agglutinititer im Blutserum				
	vor der Salbenimmunisierung	nach der Salbenimmunisierung; u. z. am			
		8. Tage	10. Tage	12. Tage	16. Tage
0	10	53	87	100	93
1/2	10	60	87	100	87
1/1	10	60	87	100	93

Ergebnisse mit Besprechung.

Der Agglutinititer, der am 12. Tage bei der Salbenimmunisierung ausnahmslos maximal im Blutserum nachzuweisen war, wurde entsprechend der Grösse der vom vorbehandelten Hautlokal ausgeschnittenen Haut sukzessiv verkleinert, während dabei die Exzision des nicht vorbehandelten normalen Hautlokals gar keine Schwankung des Agglutinititers verursachte.

Trotz der völligen Ausschneidung des immunisierten Hautlokals liess sich jedoch eine minimale Zunahme des Agglutinititers (23) im Blute nachweisen. Diese Zunahme des Titers verhielt sich zu der der Tiere, die gar keine Ausschneidung des Hautlokals nach der Salbenimmunisierung erhalten hatten, wie 23 : 90 (vgl. Tabelle 4 und 5).

Aus dieser Feststellung dürfte man sich vorstellen, dass etwa 74 Prozent der im Blutserum nachweisbaren Agglutininmenge direkt aus demjenigen Hautlokal, welches vor 7 Tagen 24 Stunden lang durch die Koktigensalbe vorbehandelt worden war, stammte.

Dabei muss man annehmen, dass etwa 26 Prozent der im Blute zugenommenen Agglutininmenge nicht vom vorbehandelten Hautlokal aus, sondern anderswo im Körper erzeugt und in die Blutzirkulation geliefert worden ist.

Daher erscheint auch die Annahme plausibel, dass die auf der äusseren Haut applizierten und somit durch die Epidermis hindurch eingedrungenen antigenen Substanzen, die ja disperse Teilchen¹⁾ darstellen, grösstenteils (über 70%) in der lokalen Haut, insbesondere im Corium²⁾ aufgespeichert bleiben, während ein geringerer Bruchteil (unter 30%) des die Epidermis eingedrungenen Immunogens das betreffende Hautlokal verlässt und weiter in die Tiefe des Körpers befördert (d. h. resorbiert) wird.

1) Über die Grösse der immunogenen Dispersoide siehe R. Torikata, l. c. S. 349.

2) Fugono, S., Wo werden die Opsonine in der Haut erzeugt? Archiv. f. Jap. Chir. Bd. 10, 1. Sept. 1933.

Versuch IV.

Über das Verhalten der Agglutininzunahme im Blute zu der Cocainisierung des vorbehandelten Hautlokals.

Wir experimentierten genau gleich wie beim Versuch III, nur dass das durch Koktigensalbe 24 Stunden lang vorbehandelte Hautlokal anstatt exzidiert, in verschiedener Grösse durch Cocainsalbe behandelt wird; und zwar wie beim Versuch II beschrieben.

Die Ergebnisse der Versuche gehen aus Tabelle 6 und 7 sowie Abb. 3 und 4 hervor.

Tabelle 6.

Das Verhalten der nach der Salbenimmunisierung im Blute nachweisbaren Agglutininmenge zum Grade der Cocainisierung des vorbehandelten Hautlokals (vgl. Abb. 3).

Grad der Cocainisierung des salbenimmunisierten Hautlokals	Der Agglutinititer im Blute				
	vor der Salbenimmunisierung	nach der 24stündigen Applikation der Koktigensalbe; u. z. am			
		7. Tage	9. Tage	11. Tage	15. Tage
0	10	53	87	100	93
1/5	10	67	87	93	67
1/3	10	67	80	87	53
1/2	10	40	67	67	40
1/1	10	27	33	33	20

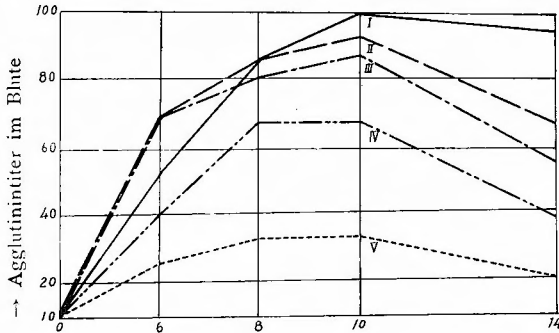
Tabelle 7.

Ergebnisse der Kontrollversuche, bei denen die normale Haut anstatt der salbenimmunisierten cocainisiert worden war (vgl. Abb. 4).

Die Grösse der cocainisierten normalen Haut	Der Agglutinititer im Blute				
	vor der Salbenimmunisierung	nach der 24stündigen Applikation der Koktigensalbe; u. z. am			
		7. Tage	9. Tage	11. Tage	15. Tage
0	10	53	87	100	93
1/2	10	67	87	100	87
1/1	10	67	93	100	87

Abb. 3.

Das Verhalten des im Blute zugenommenen Agglutinin titers bei der Salbenimmunisierung zu der Grösse der Cocainisierung des vorbehandelten Hautlokals

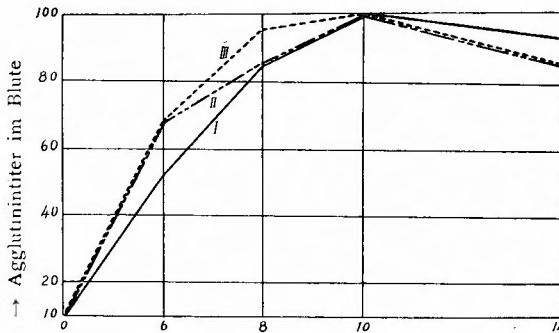


→ Die Zahl der nach Beginn der Cocainisierung abgelaufenen Tage

Kurve I—V wie bei Abb. 2, jedoch anstatt exzidiert, nur cocainisiert.

Abb. 4.

Das Verhalten des im Blute zugenommenen Agglutinin titers bei der Salbenimmunisierung zu der Grösse der Cocainisierung des nicht vorbehandelten normalen Hautlokals (Tab. 7).



→ Die Zahl der nach Beginn der Cocainisierung abgelaufenen Tage

Kurve I = Die Cocainsalbe wurde nirgends appliziert.

„ II = Die Cocainsalbe wurde zur Hälfte des vorbehandelten Hautlokals auf die weit davon entfernte normale Haut appliziert.

„ III = Die Cocainsalbe wurde entsprechend der ganzen Grösse des vorbehandelten Hautlokals auf die weit davon entfernte normale Haut appliziert.

Ergebnisse mit Besprechung.

Der Agglutinititer im Blute war am 11. Tage nach der 24stündigen Applikation der Koktigensalbe ausnahmslos am grössten, wie dies beim Versuche III auch der Fall war.

Die maximale Zunahme des Agglutinin titers betrug 90 bei den Tieren, die salbenimmunisiert, jedoch gar nicht cocainisiert, und 23 bei denen, die salbenimmunisiert, aber nachträglich über dem ganzen Hautlokal cocainisiert worden waren.

Gleichzeitig wurde festgestellt, dass selbst 14 Tage lang fortgesetzte Cocainisierung der

normalen (d. h. nicht salbenimmunisierten) Haut ceteris paribus gar keine Schwankung des Agglutinititers im Blute zu verursachen vermochte.

Daraus ergibt sich, dass die entweder durch Exzision oder durch Cocainisierung erfolgte *Ausschaltung der Zellfunktion* desjenigen Hautlokals, welches vorher 24 Stunden lang mittels der Koktigensalbe vorbehandelt worden war, die maximale Zunahme des Agglutinititers im Blute, die am 11. Tage nach der Salbenimmunisierung zum Vorschein kommt, in einem beträchtlich grossen Masse stürzen lässt. Dieser Sturz der Antikörperzunahme im Blute geschah bei unserem Versuche im Verhältnisse von $90 : 23 = 100 : 26$.

Dies lehrt uns, dass etwa 74 Prozent der bei der Salbenimmunisierung im Blute zunehmenden Agglutininmenge nichts anderem als *der unbeschädigten Zellfunktion des betreffenden Hautlokals* zu verdanken hat.

Versuch V.

Über den Unterschied zwischen der nativen und der abgekochten Vakzine von Colibakterien bei der Salbenimmunisierung.

Dass die durch regelrechte Abkochung vom Impedin befreiten Immunogene (d. h. Koktigene) gegenüber den korrespondierenden, nicht abgekochten (d. h. impedinhaltigen) eine recht grössere immunisatorische Wirkung bei einer geringeren Toxizität aufweisen, wurde schon bei der Injektionsimmunisierung z. B. betreffs Typhusbazillen vielfach nachgewiesen.¹⁾

Im folgenden sollen die beiden immunogenen Materialien, die native und die abgekochte Colibakterienvakzine, bezüglich der Salbenimmunisierung miteinander verglichen werden.

Die Ergebnisse der Versuche, die unter sonst gleichen Bedingungen ausgeführt worden sind, gehen als Mittelwerte von je 3 eine Gruppe bildenden Kaninchen aus Tabelle 8 hervor.

Tabelle 8.

Nebeneinanderstellung der am 12. Tage nach Abschluss der 24stündigen Salbenimmunisierung gewonnenen maximalen Zunahmen des Agglutinititers im Blute bei verschiedenen immunogenen Materialien und bei der Exzision des betreffenden Hautlokals in abgestuften Grösse.

Grad der Exzision des vorbehandelten Hautlokals	Die maximale Zunahme des Agglutinititers im Blute bei		
	Originalvakzinieren	Koktovakzinieren	Koktigentieren
0	63(69)	83(98)	90(100)
1/5	57	80	83
1/3	30	57	77
1/2	23	43	70
1/1	10(10)	10(?)	23(26)

Die Zahlen in () bedeuten Prozentwerte.

1) Torikata, R., Die Impedinerscheinung, l. c. S. 616—654.

Ergebnisse mit Besprechung.

Auch bei der Salbenimmunisierung erzeugte das Kocktigen gegenüber der korrespondierenden gewöhnlichen Vakzine, einer Aufschwemmung von durch niedrige Erhitzung (unter 60°C) abgetöteten Mikroben, bei weitem, i. e. im Verhältnisse von 69 : 100 grössere Menge homologen Agglutinins im Blute.

War das betreffende Hautlokal gleich nach der 24-stündigen Applikation der Immunogen-salben total ausgeschnitten, so betrug die am 11. Tage nachweisbare maximale Zunahme des Agglutinintiters im Blute 10 bei der nativen Vakzine und 23 beim Kocktigen.

Daraus ist ersichtlich, dass einerseits die immunogenen Substanzen beim Kocktigen durch die Haut hindurch in einer grösseren Menge in die Tiefe des Körpers resorbiert werden als bei der nativen Vakzine, andererseits die in einer gleichen Quantität vom Hautlokal aus ins innere des Organismus beförderten Antigene in einer weit grösseren Menge immunisatorisch ausgenutzt werden beim Kocktigen als bei einer banalen Nativvakzine, weil die letztere impedinhaltig ist.

Zusammenfassung.

1) Die durch die Salbenimmunisierungsmethode im Blute zum Vorschein gekommenen Antikörper wurden über 70 Prozent vom vorbehandelten Hautlokal aus geliefert, während sie zu etwa 30 Prozent anderswo vom übrigen Körperteile stammten.

2) Demzufolge müssen wir uns vorstellen, dass die von der eingeschnittenen Salbe aus durch die Epidermis hindurch in die interzellularen Lymphräume eingedrungenen, wirklich als Immunogen dienenden Substanzen, die ja *disperse Teilchen*¹⁾ sind, zu 70 Prozent im betreffenden Hautlokal aufgespeichert bleiben, während die übrigen (30 Prozent) der Arretur der lokalen Haut entgehen und durch die Lymphgefässe weiter in die Tiefe des Körpers, eventuell auch in die allgemeine Blutzirkulation geschleppt, sozusagen resorbiert werden, indem sie unterwegs von denjenigen Zellen (hauptsächlich Histiozyten), die disperse Teilchen aufspeichernde Fähigkeit besitzen, mehr oder weniger überall aufgenommen und somit in der Lymphe resp. im Blute immer weiter verdünnt werden.

3) Bei der Salbenimmunisierungsmethode kann somit die unangenehme Nebenwirkung fast gar nicht zustande kommen, weil dabei die Belastung der inneren Organe mit den immunogenen Substanzen, die gewissermassen toxisch wirken, wie oben auseinandergesetzt, eine verschwindend kleine sein muss.

4) Bei der Salbenimmunisierung war die Menge des Agglutinins, die sowohl vom Hautlokal, als auch vom übrigen Körperteile aus in die Blutzirkulation geliefert wurde, eine beträchtlich kleinere bei der gewöhnlichen Vakzine als beim korrespondierenden Kocktigen (Versuch V). Dies lehrt uns, dass die Aufspeicherung und Verwertung der immunogenen Substanzen zur Erzeugung der Antikörper in Gegenwart des Impedins im Impfstoffe stark beeinträchtigt wird.

1) Über die Grösse der Teilchen siehe noch Inoki, R., Arch. f. Jap. Chir. Bd. 6, 1929.